

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局(43) 国際公開日  
2003 年 6 月 12 日 (12.06.2003)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 03/047655 A1

- (51) 国際特許分類: A61M 1/02 (74) 代理人: 藤野 清也, 外(FUJINO,Seiya et al.); 〒160-0004 東京都 新宿区 四谷1丁目2番1号 三浜ビル8階 Tokyo (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP02/12597
- (22) 国際出願日: 2002 年 12 月 2 日 (02.12.2002)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願2001-368397 2001 年 12 月 3 日 (03.12.2001) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 旭メディカル株式会社 (ASAHI MEDICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒101-8482 東京都 千代田区 神田美土代町9番地1 Tokyo (JP).
- (81) 指定国 (国内): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NO, NZ, OM, PH, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SK, SL, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (84) 指定国 (広域): ARIPO 特許 (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア特許 (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ特許 (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, SI, SK, TR), OAPI 特許 (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- (72) 発明者: および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山田 幸弘 (YAMADA, Yukihiro) [JP/JP]; 〒870-0263 大分県 大分市 横田2-4-3 グレイス壱番館302号 Oita (JP). 三浦 裕文 (MIURA, Hirofumi) [JP/JP]; 〒144-0054 東京都 大田区 新蒲田3-2-2 シンシア蒲田セカンドステージ502 Tokyo (JP).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: FILTER FOR SELECTIVELY ELIMINATING LEUKOCYTES

WO 03/047655 A1

(54) 発明の名称: 白血球選択除去フィルター材

(57) Abstract: It is intended to provide a filter for selectively eliminating leukocytes whereby leukocytes can be selectively and efficiently eliminated without worsening in the performance due to sterilization while causing little elution and minimizing loss in platelets. Namely, a filter for selectively eliminating leukocytes which is highly tolerant to sterilization and contains a polymer on the filter surface, characterized in that the polymer consists of a hydroxyalkyl (meth)acrylate unit having 3 or 4 carbon atoms in the alkyl moiety, a monomer unit having a basic nitrogen-containing functional group, and a monomer unit having an ethylene oxide chain with a repetition number of 2 to 9, the content of the monomer unit having the basic nitrogen-containing functional group ranges from 2 % by mol to 9 % by mol in the polymer, and the ethylene oxide chain content ranges from 1% by weight to 10% by weight.

[続葉有]

WO 03/047655 A1



---

(57) 要約:

本発明は、滅菌処理による性能低下がなく、溶出が少なく、かつ、血小板の損失を極めて少なく抑えつつ、白血球を選択的に効率よく除去することができる白血球選択除去フィルター材を提供することを目的とする。

本発明は、ポリマーをフィルター材表面に含む白血球選択除去フィルター材において、該ポリマーをアルキル部分の炭素数が3または4のヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートユニット、塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニット、及び繰返し数2～9のエチレンオキサイド鎖を有するモノマーユニットから構成し、該ポリマー中の塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットが2mol%以上9mol%以下、エチレンオキサイド鎖の含量が1wt%以上10wt%以下にすることを特徴とする耐滅菌性に優れた白血球選択除去フィルター材である。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

## 明細書

## 白血球選択除去フィルター材

## 〔技術分野〕

本発明は、血液から白血球を選択的に除去し血小板は通過する白血球選択除去フィルター材に関する。

## 〔背景技術〕

現在、輸血の分野では、患者に必要な成分のみを輸血する成分輸血が行われるようになってきている。その際、輸血後の副作用を防ぐため、各種血液成分製剤は十分に低い水準まで白血球除去されていることが必要である。白血球を除去する方法としては、白血球除去能に優れていること、操作が簡便であること、およびコストが低いことなどの利点を有することから、フィルター法が広く用いられている。

この際、血液を各成分に分離して、各種血液成分製剤を調整した後、フィルターを用いて白血球を除去する方式では、血液成分製剤毎に白血球除去操作が必要である。一方、全血から白血球のみを除去した後、各血液成分製剤を調整する方式は白血球除去操作が1回で済むため、操作性、コストの観点から非常に有用である。

しかしながら、現在市販されている全血製剤用のフィルターは血小板も除去してしまうため、ろ過後の全血製剤から血小板製剤を調整することができない問題がある。そこで、全血から血小板、赤血球を通過させ、白血球を選択的に除去する高機能なフィルター材が要求されている。

これまで、血液から血小板を通過させ、白血球を除去することを目的としたフィルター材に関してはいくつかの報告がある。特公平6-51060号公報には、ヒドロキシエチルメタクリレート（以下HEMAと略す）とジメチルアミノエチルメタクリレートからなる2元系ポリマーをコーティングするような、非イオン性親水性基と塩基性含窒素官能基

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

とを表面に含有するフィルター材が開示されている。しかし、本発明者らの研究によると、このフィルター材は親水性が高いために血小板の通過性を付与することができるが、ポリマーが溶出しやすいという問題があることが分かった。そこで、本発明者らは、HEMAの代わりにHEMAより若干疎水性であるヒドロキシプロピルメタクリレートを用いると、溶出抑制には効果がみられたが、高圧蒸気滅菌を行うと血小板回収率が低下してしまうという新たな問題点が生じることを知見した。

本出願人は、エチレンオキサイド鎖をフィルター表面に導入することで親水性高め、血小板回収率を向上させた、繰返し単位数2～15のエチレンオキサイド鎖と塩基性含窒素官能基とを含有する白血球除去フィルター材を特開平5-194243号公報において開示した。しかし、本発明者らは、エチレンオキサイド鎖が長くなったり、あるいはエチレンオキサイド鎖の含量が多くなったりすると、血液への溶出が懸念されることを見出した。

さらに、本出願人は、特開2000-245833号公報によって、繰返し単位数2のエチレンオキサイド鎖を含有する白血球除去フィルター材を開示した。しかし、実施例で用いられているポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量が14～38wt%と多いため、やはり血液への溶出が懸念される。

さらに、本出願人は、血小板粘着が少なく白血球を効率よく除去させ、溶出を抑制するフィルター材として、特開平7-25776号公報に、疎水性部分と繰返し単位数2～100のエチレンオキサイド鎖の両方を有するポリマーを表面にコーティングした白血球選択除去フィルター材を開示した。実施例で用いられているポリマーは疎水性部分を含有するが、エチレンオキサイド鎖含量は59～74wt%と多いため、やはり、血液へのポリマーの溶出が懸念される。エチレンオキサイド鎖を含むポリマーは高温よりも低温の方が溶出しやすい傾向があることから、今回、本発明者らがメチルメタクリレート(30mol%)と繰返し単位数9のメトキシノナエチレングリコールメタクリレート(70m

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

0.1%) となるポリマーを用いて通常の血液処理温度（室温）での溶出について検討したところ、20%以上のポリマーが溶出されることを知見した。さらに、高い親水性は血小板粘着抑制に効果的であるが、一方で白血球捕捉能力の低下が懸念される。実施例において用いられている濃厚血小板液は白血球濃度が低いため、その点が問題とされていなかったが、本発明者らは、濃厚血小板液に比べ白血球濃度が圧倒的に高い全血を用いた場合には、十分な白血球除去能が得られないという問題点が生じることを新たに見出した。

以上のように、白血球選択除去フィルター材として、耐滅菌性に優れ、かつ血液への溶出が少ない高い安全性と、高い血液処理性能を有するフィルター材は、未だ得られていないのが現状である。

#### 〔発明の開示〕

本発明は、従来の白血球除去フィルターの滅菌処理による性能低下という問題点と室温において溶出しやすいという問題点を克服し、かつ、ヒト全血の場合でも血小板の損失を極めて少なく抑えつつ、白血球を選択的に効率よく除去できる白血球選択除去フィルター材を提供することを課題とするものである。

本発明者らは、前記課題を解決するため鋭意検討した結果、ポリマーをフィルター材表面に含む白血球選択除去フィルター材において、該ポリマーを構成するユニットを溶出性および血液性能の観点からアルキル部分の炭素数が3または4のヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートユニットと塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットにし、さらに、繰返し単位数2～9のエチレンオキサイド鎖を有するモノマーユニットを少量加えることによって、驚くべきことに、溶出性が著しく低く、高い白血球除去能と高い血小板回収率を示し、さらに、耐滅菌性に非常に優れたフィルター材が得られることを見出し、本発明をなすに至った。

すなわち、本発明は、フィルター材表面にポリマーを含む白血球選択除去フィルター材であって、該ポリマーがアルキル部分の炭素数が3ま

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

たは4のヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートユニットと塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットと繰返し単位数2～9のエチレンオキサイド鎖とを有するモノマーユニットから構成され、ポリマー中の塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットの組成が2mol%以上9mol%以下、エチレンオキサイド鎖の含量が1wt%以上10wt%以下であることを特徴とする耐滅菌性に優れた白血球選択除去フィルター材に関するものである。

フィルター基材表面に導入するポリマー中のヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートユニットのアルキル部分において、従来は炭素数1あるいは2のヒドロキシメチル（メタ）アクリレートあるいはヒドロキシエチル（メタ）アクリレートユニットが用いられてきた。本発明では炭素数3または4のヒドロキシプロピル（メタ）アクリレートまたはヒドロキシブチル（メタ）アクリレートを選択することによって、適度の親水性を保ちながら、且つ溶出の問題を解決した。

また、ポリマー中の塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットを2mol%以上9mol%以下にすることで、白血球除去能をより高く安定化させ、さらに血小板回収率も向上させることができた。

さらに、本発明ではポリマーを構成するエチレンオキサイド鎖の繰返し単位数を2～9にし、かつ含有量を1wt%以上10wt%以下にすることによって、血液中へのポリマーの溶出を抑制し、且つ粘着による血小板回収率の低下も減少させることができた。さらに、エチレンオキサイド鎖を含有させることにより、思いがけず高温における滅菌処理によっても血小板回収率の低下を防ぐことができた。

本発明においては、ポリマーがビニル系ポリマーであることが好ましい。また、ポリマーの重量平均分子量は10万以上50万以下であり、重量平均分子量が1万以下の低分子量の割合は10wt%未満であることが好ましく、ポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量とポリマーの重量平均分子量との比が $3.5 \times 10^{-6}$ 以上 $40 \times 10^{-6}$ 以下であることが、さらに好ましい。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

さらにまた、本発明において、ヒト全血から白血球を選択的に除去するためには、フィルター基材表面へのポリマーの導入量は、フィルター基材の単位表面積当たり  $90 \text{ mg/m}^2$  以上  $300 \text{ mg/m}^2$  以下が好ましい。

〔発明の実施における最良の形態〕

以下、本願発明について具体的に説明する。

本発明でいうポリマーとは、アルキル部分の炭素数が3または4のヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートユニットと塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットとエチレンオキサイド鎖を有するモノマーユニットから構成されるポリマーのことである。なお、本発明で（メタ）アクリレートとは、アクリレートまたはメタクリレートのことをいう。

該ポリマーは公知の重合法によって得ることができる。例えば、連鎖反応である付加重合、環化重合、異性化重合、開環重合、逐次反応である脱離反応、重付加、重縮合や付加重縮合等が挙げられる。その中でモノマーの入手が容易であること、取り扱いやすいことや合成しやすい等の理由により、重合性部分がビニル基であるモノマーを付加重合（ビニル重合）することにより得られるポリマーが好ましく、ランダム共重合体、ブロック共重合体どちらでも良い。また、本発明でいうユニットとは、ポリマー中の一部分であり、モノマーの重合等により構成される最小繰返し単位を意味する。

本発明でいうアルキル部分の炭素数が3または4のヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートは、親水性の水酸基と疎水性のアルキル鎖を有しているため、血小板回収率の向上および溶出の抑制を同時に達成するのに効果的である。また、血液に対する濡れ性が適度に良好であるため、フィルター材表面の有効利用率が高くなり、白血球除去能の向上にも有効である。さらに、 $\gamma$ 線及び電子線滅菌後における溶出も少ないという利点を有する。アルキル部分の炭素数が2以下であると親水性が高くなるため、ポリマーの溶出が懸念され、5以上であると疎水性が高く

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

なり、血小板回収率の低下をまねく恐れがある。具体的には、ヒドロキシプロピル（メタ）アクリレート、ヒドロキシブチル（メタ）アクリレートおよびそれらの異性体、さらに異性体の混合物のことであり、その中でも取扱い性等の観点からメタクリル酸誘導体が好ましく、さらにはヒドロキシプロピルメタクリレートが最も好ましい。

塩基性含窒素官能基を有する材料は、血液に代表される細胞浮遊液中で材料表面が正電荷を有するようになり、負電荷を有する白血球を粘着させるというのが一般的な現象であった。より安定した高い白血球除去能を付与するためには、塩基性含窒素官能基がポリマー中に含まれることが必要である。ポリマー中の塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットの含量は、2 mol %以上9 mol %以下であり、好ましくは3 mol %以上7 mol %以下である。2 mol %未満であると十分な白血球除去能を得られにくく、9 mol %を超えると、血小板の粘着が起こりやすくなり、高い血小板回収率を得られにくいためである。

塩基性含窒素官能基としては、第1級アミノ基、第2級アミノ基、第3級アミノ基、4級アンモニウム基、ピリジル基、イミダゾイル基などが挙げられ、その塩基性含窒素官能基を有するモノマーとしては、ビニルアミン、2-ビニルピリジン、4-ビニルピリジン、2-メチル-5-ビニルピリジン、4-ビニルイミダゾール、N-ビニル-2-エチルイミダゾール、N-ビニル-2-メチルイミダゾール等の含窒素芳香環化合物のビニル誘導体、ジメチルアミノエチル（メタ）アクリレート、ジエチルアミノエチル（メタ）アクリレート、3-ジメチルアミノ-2-ヒドロキシプロピル（メタ）アクリレート、ジメチルアミノエチル（メタ）アクリルアミド、ジエチルアミノエチル（メタ）アクリルアミド、p-ジメチルアミノメチルスチレン、p-ジエチルアミノエチルスチレン、及び前記化合物をハロゲン化アルキル基によって4級アンモニウム塩とした誘導体などが挙げられるが、上記物質に限定されるものではない。好ましくは、入手のし易さ、取り扱い性の点からアクリル酸誘導体またはメタクリル酸誘導体であり、特に3級アミノ基を含む、ジメチル



WO 03/047655

PCT/JP02/12597

アミノエチル（メタ）アクリレート、ジエチルアミノエチル（メタ）アクリレートがより好ましい。

ポリマー中のエチレンオキサイド鎖を有するモノマーユニットは、エチレンオキサイド鎖の持つ優れた血液適合性により、高い血小板粘着抑制効果を示す。さらにポリマー中にエチレンオキサイド鎖を少量含有させることにより、高圧蒸気滅菌による血小板粘着の増加を抑制する効果を有し、耐滅菌性という新たな機能を付与することができる。本発明で用いられるエチレンオキサイド鎖を有するモノマーは、エチレンオキサイド鎖の繰返し単位数が2～9のものである。繰返し単位数が2未満では、十分な血小板粘着抑制効果を得られにくく、また高圧蒸気滅菌による血小板回収率低下を抑えにくくなる傾向がある。繰返し単位数が9を超えると、フィルター基材との接着性が低くなり、血液に接触した時に溶出しやすくなる傾向がある。さらに、入手が容易であること、取り扱いやすいことや合成しやすい等の理由により繰返し単位数が2～4のものが好ましい。さらには、繰返し単位数が2のものが最も好ましい。具体的には、メトキシジエチレングリコール（メタ）アクリレート、メトキシトリエチレングリコール（メタ）アクリレート、メトキシテトラエチレングリコール（メタ）アクリレートなどが挙げられるが、上記物質に限定されるものではない。また、溶出性の観点から、非プロトン性であることがより好ましい。

本発明におけるポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量とは、ポリマー重量に対するエチレンオキサイド鎖の占める重量%である。エチレンオキサイド鎖のポリマー中における含量は、1wt%以上10wt%以下、好ましくは3wt%以上8wt%以下である。なぜなら、この範囲において、溶出を低く抑えつつ、高い耐高圧蒸気滅菌性を得ることができるためである。すなわち、1wt%未満であると高圧蒸気滅菌後の血小板回収率が低下し、10wt%を超えると血液への溶出が多くなる場合がある。

塩基性含窒素官能基の含量およびエチレンオキサイド鎖の含量は、例

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

例えば、多重全反射赤外線分光計を用いる赤外線吸光光度法（ATR-IR）、核磁気共鳴スペクトル法（NMR）、元素分析などの公知の方法で測定することができる。

ポリマーのフィルター基材表面への導入量は単位表面積あたり、 $90 \text{ mg/m}^2$ 以上 $300 \text{ mg/m}^2$ 以下である。より好ましい範囲は $120 \text{ mg/m}^2$ 以上 $250 \text{ mg/m}^2$ 以下である。 $90 \text{ mg/m}^2$ 未満である場合には、フィルター材表面をポリマーで完全に被覆できない恐れがあり、ポリマーの機能が効果的に発揮されず、ヒト全血を用いた時に、十分な血小板回収率を得られない場合がある。逆に、 $300 \text{ mg/m}^2$ より多い場合は、フィルター材の比表面積が小さくなり、十分な白血球除去能を得られない場合がある。

ここで、単位表面積当たりの導入量とは、フィルター基材 $1 \text{ m}^2$ あたりに導入されたポリマーの重量を指す。本発明におけるフィルター基材の表面積は、吸着温度を液体窒素温度とし、吸着ガスにクリプトンガスを用いたBET吸着法により測定された比表面積から算出できる。

本発明におけるフィルター基材表面へのポリマーの導入量は、導入前後の重量変化から簡易的に求めることができる。また、導入前の重量が未知の場合でも、ポリマーのみを溶解する良溶媒が存在する場合には、良溶媒にポリマーを溶解させ、溶解前後の重量差からポリマー重量を算出することも可能である。また、フィルター材そのものを溶媒により全溶解させて核磁気共鳴分光法（NMR）により算出する方法や、ポリマー中にアミノ基などの荷電性官能基が含まれていて、その共重合組成が既知の場合には、その荷電性官能基にイオンの吸着する色素を用いる色素吸着法による算出も可能である。

またポリマーが該白血球選択除去フィルター材表面上に存在するのを確認する方法としてはX線光電子分光法（XPS）、2次イオン質量分光法（SIMS）など公知の解析方法で解析する事が可能である。

ここで、フィルター基材表面にポリマーを導入する方法としては、ポリマーのフィルター基材表面へのコーティングなどの一般的な表面修

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

飾方法を用いることができる。また、ポリマー導入の前処理として、本発明のポリマーとフィルター基材との接着性をより高めるなどの効果のため、フィルター基材の表面を酸、アルカリなどの適当な薬品で処理をしたり、プラズマや電子線を照射したりすることもできる。更に、ポリマーを表面に導入した後に熱処理や、 $\gamma$ 線、電子線などの放射線を照射する後加工を施し、フィルター基材と該ポリマーとの接着性を更に強化することもできる。

本発明に用いられるポリマーの重量平均分子量は10万以上50万以下が好ましい。重量平均分子量が10万未満であると血液と接触した時にポリマーの血液への溶出がおこりやすく、また重量平均分子量が50万を超えるとコーティングが困難となるばかりではなく血液接触時において血液の流れ性が悪くなり、何れの場合も白血球選択除去フィルターとしての性能を十分に発揮できない恐れがある。また、重量平均分子量が50万を超えると高圧蒸気滅菌後の血小板回収率が低下する場合がある。溶出性の観点から重量平均分子量が1万以下の割合は10wt%未満であることが好ましい。

なお、分子量は、種々の公知の方法により求められるが、本発明ではポリメチルメタクリレートを標準とするゲルパーミエーションクロマトグラフィー（以下GPCと略す）測定による値を採用している。具体的には、ポリメチルメタクリレート標準試料として、STANDARD M-75（昭和電工製）、GPCカラムとしてTSK gel  $\alpha$ -M（東ソー製）、溶離液にジメチルホルムアミド（臭化リチウムを10mmol/L含む）、検出には示差屈折計を用い、流速1.0ml/分、温度40℃の条件で測定し、重量平均分子量および重量平均分子量が1万以下の割合を算出した。

本発明におけるポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量とポリマーの重量平均分子量との比（以下EO/Mwと略す）は $3.5 \times 10^{-6}$ 以上 $40 \times 10^{-6}$ 以下であることが好ましい。前記の通り、ポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量とポリマーの重量平均分子量は溶出性

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

および耐滅菌性に密接に関与している。すなわち、EO/Mwが $3.5 \times 10^{-6}$ 未満であるとエチレンオキサイド鎖の含量が少ない、および／または、重量平均分子量が大きい傾向にあり、高圧蒸気滅菌後の血小板回収率が低下する恐れがある。一方、EO/Mwが $40 \times 10^{-6}$ を超えるとエチレンオキサイド鎖の含量が多い、および／または、重量平均分子量が小さい傾向にあり、血液への溶出が多くなる場合がある。なお、本発明で言うEO/Mwとはエチレンオキサイド鎖の含量(wt%)をポリマーの重量平均分子量で除した値のことである。

本発明のフィルター材の平均細孔径は $1 \mu\text{m}$ 以上 $30 \mu\text{m}$ 以下、好ましくは $1 \mu\text{m}$ 以上 $20 \mu\text{m}$ 以下、より好ましくは $2 \mu\text{m}$ 以上 $10 \mu\text{m}$ 以下である。平均細孔径が $1 \mu\text{m}$ 未満では全血などをろ過する際の圧力損失が高すぎて実用的でない恐れがあり、 $30 \mu\text{m}$ より大きい場合にはフィルター材と白血球との接触確率が低下し、十分な白血球除去能を示さない可能性がある。尚、ここで言う平均細孔径とは、ASTM F316-86に記載されているバブルポイント法に準じて自動細孔測定装置(POROUS MATERIALS INC. 製)を用い、1辺を5cm、厚みを約0.6mmの形状に調製したフィルター材をフッ素系不活性液体FC-43(住友スリーエム製)中に浸漬した後測定した平均細孔径を指す。

また、本発明のフィルター材の嵩密度は $0.10 \text{ g/cm}^3$ 以上 $0.50 \text{ g/cm}^3$ 以下、好ましくは $0.10 \text{ g/cm}^3$ 以上 $0.35 \text{ g/cm}^3$ 以下、より好ましくは $0.15 \text{ g/cm}^3$ 以上 $0.30 \text{ g/cm}^3$ 以下の性状を有するものである。嵩密度が $0.10 \text{ g/cm}^3$ 未満である場合には機械的強度が不足し血液ろ過の際にフィルター材が変形する恐れがある。また、嵩密度が $0.50 \text{ g/cm}^3$ より高い場合には血液の通液抵抗が高くなり、ろ過時間の延長などの不具合を起こす可能性がある。なお、ここで言う嵩密度とは、フィルター材の重量をその寸法から算出される厚みと面積を乗じて求めた体積で除した値のことであり、厚みは任意の3箇所以上の測定値を平均した値を用いる。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

本発明の白血球除去用フィルター材の基材とは、血液をろ過し得る細孔を有するもので血球にダメージを与えにくいものであれば特に限定はなく、何れの形態を有するものも含まれる。具体的には天然繊維、ガラス繊維、編布、織布、不織布などの繊維状媒体や多孔膜、三次元網目状連続孔を有するスポンジ状構造物である。

本発明のフィルター基材を形成する素材として、有機高分子材料は切断等の加工性に優れるためより好ましい素材である。具体的には、ポリエチレンやポリプロピレン等のポリオレフィン、ポリエステル、ポリウレタン、ポリアミド、エチレンービニルアルコール共重合体、ポリアクリレート、ポリメタクリレート、ポリスルホン、セルロース、セルロースアセテート、ポリフッ化ビニル、ポリフッ化ビニリデン、ポリエーテルスルホン、ブタジエンーアクリロニトリル共重合体、ポリエチレンテレフタレート、ポリブチレンテレフタレート、ポリテトラエチレンテレフタレート、あるいはそれらの混合物などが挙げられるが、本発明のフィルター基材の素材は上記例示に限定されるものではない。

また、本発明でいうヒト全血とは、ACD (acid-citrate-dextrose) やCPD (citrate-phosphate-dextrose) などの抗凝固剤を含む、採血後3日以内、好ましくは1日以内、更に好ましくは8時間以内の全血製剤のことである。また、採血後からフィルターろ過するまでの間の保存温度は、4℃以上30℃以下が好ましい。より好ましくは15℃以上25℃以下の温度で保存された全血製剤であることが望ましい。採血後3日を超えて保存された全血製剤や、4℃未満の温度で保存された全血製剤は、含まれる血小板の機能が低下する恐れがあるために望ましくない。また30℃を超える温度で保存した全血製剤は、血漿タンパク質の変性などが起こりやすく、血小板回収率の向上が見られない可能性があるため好ましくない。

以下に本発明の実施例を示すがこれに限定されるものではない。

#### 〔実施例〕

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

## 〔実施例 1〕

## (ポリマーの合成)

フィルター基材の表面をコーティングする場合に用いるポリマーの合成方法の一例を示す。エタノール (230 g) を還流装置を設置した反応容器に入れ、70℃で1時間窒素でバブリング・溶液の攪拌を行った後に窒素雰囲気を維持したまま、モノマーを120分かけて系中に滴下し、並行して開始剤溶液を420分かけて系中に滴下し、開始剤溶液滴下完了後2時間さらに重合を行った。モノマーとしてはヒドロキシプロピルメタクリレート (以下HPMAと略す) を116.04 g (0.81 mol)、塩基性含窒素官能基を有するモノマーに該当するジメチルアミノエチルメタクリレート (以下DMと略す) を4.04 g (26 mmol) および繰返し単位数2のエチレンオキサイド鎖を有するモノマーに該当するメトキシジエチレングリコールメタクリレート (以下DEGと略す) を4.83 g (26 mmol) 含む液体である。つまり各モノマーの仕込み量は、HPMAが94.0 mol%、DMが3.0 mol%、DEGが3.0 mol%である。開始剤溶液は、アゾビスジメチルバレロニトリル (V-65) を0.70 g 含むエタノール溶液である。重合溶液を純水に滴下しポリマーを析出させ回収し、析出したポリマーを細断したものを再度純水に投入して1時間攪拌することでポリマーの洗浄を行った。次に洗浄を完了したポリマーを40℃で真空乾燥させて目的のポリマーを得た (以下DPM943と略す)。得られたポリマーの組成分析をNMR測定の積分値から算出したところほぼ仕込み比どおりであることを確認した。よって、DMユニットの含量は3 mol%であり、また、NMR法により測定したエチレンオキサイド鎖の含量は1.8 wt%であった。GPC測定による重量平均分子量は $3.1 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2 wt%であった。本発明の実施例および比較例において、ポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量は、ポリマーをDMF (ジメチルホルムアミド) に5 wt/vol%の濃度で溶解し、JNM-LA400 (日本電子社製) を

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

用い、周波数 400 MHz、室温の条件で  $^1\text{H}$ -NMR 測定を行い、各シグナルを積分した値から算出した。

(フィルター材の作製)

フィルター材の作製方法の例を次に示す。得られたポリマー (DPM 943) 10 g をイソプロパノールと純水の混合溶媒 100 g に溶解させ、その溶液に、ポリエチレンテレフタレート製不織布 (平均孔径 7  $\mu\text{m}$ 、目付け 40 g/ $\text{m}^2$ ) を浸漬させ、余分な液を除去した後に室温で 16 時間乾燥させて目的のフィルター材を得た。フィルター材の嵩密度は、0.24 g/ $\text{cm}^3$  であった。

次にフィルター基材の表面積測定を行った。測定方法は BET 吸着法で、測定装置は、島津アキュソーブ 2100E、吸着ガスはクリプトンガス、吸着温度は液体窒素温度である。測定の結果、フィルター基材の比表面積は、1.47  $\text{m}^2/\text{g}$  であり、フィルター基材の単位表面積あたりのポリマー重量は 210 mg/ $\text{m}^2$  であった。

なお、本発明の実施例および比較例において、ポリマーの導入量は、次のようにして求めた。フィルター材の重量  $W_f$  (g) を測定した後、それをエタノール中に投入、振盪し、ポリマーを完全に溶解させる。フィルター材を取り出して、乾燥させた後、その重量  $W_b$  (g) を測定する。フィルター基材の単位表面積あたりのポリマー導入量  $W_p$  (mg/ $\text{m}^2$ ) を、次式により算出する。

$$W_p = (W_f - W_b) \times 1000 / W_b / S$$

ここで、 $S$  は、フィルター基材の比表面積 ( $\text{m}^2/\text{g}$ ) である。

(溶出物試験)

次に溶出物試験方法を記述する。作製したフィルター材 5 cm  $\times$  5 cm を 50 ml の純水中に、25  $^{\circ}\text{C}$  で 16 時間浸漬させた後にフィルター材を真空乾燥させ、(1) 式により浸漬前後のポリマーの重量変化率を算出した。

$$\text{重量変化率 (\%)} = (1 - [\text{フィルター材中のポリマー重量 (浸漬後)}] / [\text{フィルター材中のポリマー重量 (浸漬前)}]) \quad (1)$$

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

溶出物試験の結果、重量変化率は0.2%であった。なお、ポリマー重量は、各ポリマーの良溶媒に完全溶解させ、溶解前後の重量差から算出した。また、溶解後のフィルター材にポリマーが残っていないことは、NMR測定により確認している。

(血液評価)

次に白血球除去能および血小板回収率を評価する試験方法を記述する。血液評価に用いる血液は全血であり、採血直後の血液100mlに対してろ過済みCPD溶液(クエン酸三ナトリウム・二水和物2.630gとクエン酸一水和物0.327gとリン酸二水素ナトリウム・二水和物0.251gとグルコース2.320gを注射用蒸留水100mlに溶解させた溶液を0.2 $\mu$ mのフィルターでろ過したもの)を14ml加え混和し2時間静置したものである(以後、「ろ過前血」という)。

フィルター材16枚を有効ろ過面積1.3cm<sup>2</sup>のカラムに充填し、全血を流速0.9ml/minでカラム内に流し、8mlを回収した(以後、「ろ過後血」という)。白血球除去能はフローサイトメトリー法(装置: BECTON DICKINSON社製 FACSCalibur)を用い、次の(2)式に従い計算した。

$$\text{白血球除去能} = -\log \left( \frac{[\text{白血球数 (ろ過後血)}]}{[\text{白血球数 (ろ過前血)}]} \right) \quad (2)$$

なお、各試料の調製は、血液100 $\mu$ Lをサンプリングし、ビーズ入りLeucocountキット(日本ベクトン・ディッキンソン社)を用いて行った。血小板回収率は、自動血球数測定装置(東亜医用電子株式会社Sysmex K4500)にて測定を行い、次の(3)式に従い計算した。

$$\text{血小板回収率} = \frac{[\text{血小板濃度 (ろ過後血)}]}{[\text{血小板濃度 (ろ過前血)}]} \times 100 \quad (3)$$

結果は、白血球除去能は3.6、血小板回収率は84%であった。

また、上記フィルター材を高圧蒸気滅菌(118 $^{\circ}$ C、30分)処理したのについて、同様の溶出物試験および血液評価を実施した。結果は、



WO 03/047655

PCT/JP02/12597

重量変化率が0.2%であり、白血球除去能が3.8、血小板回収率が81%であった。なお、実施例1の結果も含めてこれ以降に記述される溶出物試験結果ならびに血液評価結果については〔表1〕にすべてまとめてある。

〔実施例2〕

各モノマーの仕込み量をHPMA90.0mol%、DM3.0mol%、DEG7.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM903と略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は4.2wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $2.9 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は202mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は1.0%であり、白血球除去能は3.7、血小板回収率は86%であった。高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は0.8%であり、白血球除去能は4.0、血小板回収率は84%であった。

また、未処理フィルター材に $\gamma$ 線滅菌処理（25kGy）を施したものについて同様の溶出物試験および血液評価を実施した。結果は、重量変化率が1.0%であり、白血球除去能が3.8、血小板回収率が86%であった。

また、0.5gのDPM903をイソプロパノールと純水の混合溶媒100gに溶解させ、その溶液をポリエチレンテレフタレート製フィルム上に塗布し、余分な液を除去した後に室温で16時間乾燥させて、DPM903コートフィルムを得た。このフィルムを実施例1と同様の条件で高圧蒸気滅菌処理し、その表面状態を走査型電子顕微鏡（倍率3,000）で観察した。電子顕微鏡写真によるとフィルム表面が非常に滑らかであることが観察された。

〔実施例3〕

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

各モノマーの仕込み量をHPMA 86.0mol%、DM 3.0mol%、DEG 11.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM 863と略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は6.5wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.2 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $197 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は1.5%であり、白血球除去能は3.8、血小板回収率は87%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は1.4%であり、白血球除去能は3.9、血小板回収率は86%であった。

#### 〔実施例4〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 82.0mol%、DM 3.0mol%、DEG 15.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM 823と略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は8.7wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.3 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $204 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は2.9%であり、白血球除去能は3.5、血小板回収率は88%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は2.6%であり、白血球除去能は3.7、血小板回収率は88%であった。

#### 〔実施例5〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 88.0mol%、DM 5.0mol%、DEG 7.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM 885と略す）中のDM

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

ユニットの含量は5 mol %であり、エチレンオキサイド鎖の含量は4.2 wt %であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.0 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2 wt %であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は199 mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は2.5 %であり、白血球除去能は3.8、血小板回収率は85 %であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は2.3 %であり、白血球除去能は4.0、血小板回収率は83 %であった。

#### 〔実施例6〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 86.0 mol %、DM 7.0 mol %、DEG 7.0 mol %とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM 867と略す）中のDMユニットの含量は7 mol %であり、エチレンオキサイド鎖の含量は4.2 wt %であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $2.9 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2 wt %であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は205 mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は2.8 %であり、白血球除去能は3.9、血小板回収率は84 %であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は2.5 %であり、白血球除去能は4.0、血小板回収率は83 %であった。

#### 〔実施例7〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 94.0 mol %、DM 3.0 mol %、エチレンオキサイド鎖の繰返し単位数が4であるメトキシテトラエチレングリコールメタクリレート（以下TEGと略す）3.0 mol %とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下TPM 943と略す）中のDMユニットの含量は3 mol %であり、エチレンオキサイド鎖の含量は3.6 wt %であった。また、

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.2 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $206 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は1.5%であり、白血球除去能は3.5、血小板回収率は87%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は1.3%であり、白血球除去能は3.7、血小板回収率は85%であった。

〔実施例8〕

各モノマーの仕込み量をHPMA95.0mol%、DM3.0mol%、エチレンオキサイド鎖の繰返し単位数が9であるメトキシノナエチレングリコールメタクリレート（以下NEGと略す）2.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下NPM953と略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は5.2wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.4 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $208 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は2.3%であり、白血球除去能は3.5、血小板回収率は88%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は2.1%であり、白血球除去能は3.6、血小板回収率は87%であった。

〔実施例9〕

各モノマーの仕込み量をヒドロキシブチルメタクリレート（以下HBMAと略す）87.0mol%、DM3.0mol%、DEG10.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DBM873と略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は5.5wt%であった。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.0 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $202 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は0.7%であり、白血球除去能は3.7、血小板回収率は83%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は0.7%であり、白血球除去能は3.9、血小板回収率は80%であった。

#### 〔実施例10〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 80.0mol%、DM 5.0mol%、DEG 15.0mol%とし、エタノールを330g、V-65を0.78gとした以外は実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM805Lと略す）中のDMユニットの含量は5mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は8.7wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $1.3 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は4wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $202 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は4.7%であり、白血球除去能は3.8、血小板回収率は85%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は4.3%であり、白血球除去能は3.8、血小板回収率は84%であった。

#### 〔実施例11〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 80.0mol%、DM 5.0mol%、DEG 15.0mol%とし、モノマー滴下時間を90分、V-65を0.50gとした以外は実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM805Hと略す）中のDMユニットの含量は5mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は8.7wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は4.4

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

$\times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は205mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は2.0%であり、白血球除去能は3.9、血小板回収率は84%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は1.7%であり、白血球除去能は4.0、血小板回収率は82%であった。

#### 〔実施例12〕

各モノマーの仕込み量をHPMA82.0mol%、DM3.0mol%、DEG15.0mol%とし、モノマー滴下時間を90分、V-65を0.40gとした以外は実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM823Hと略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は8.7wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $5.5 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は210mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は1.8%であり、白血球除去能は3.6、血小板回収率は87%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は1.5%であり、白血球除去能は3.7、血小板回収率は82%であった。

#### 〔実施例13〕

各モノマーの仕込み量をHPMA88.0mol%、DM5.0mol%、DEG7.0mol%とし、エタノールを330g、V-65を0.78gとした以外は実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM885Lと略す）中のDMユニットの含量は5mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は4.2wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $1.4 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は4wt%であった。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

実施例 1 と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は  $199 \text{ mg/m}^2$  であり、重量変化率は  $2.8\%$  であり、白血球除去能は  $3.7$ 、血小板回収率は  $88\%$  であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は  $2.6\%$  であり、白血球除去能は  $3.9$ 、血小板回収率は  $88\%$  であった。

〔実施例 14〕

各モノマーの仕込み量を HPMA  $94.0 \text{ mol}\%$ 、DM  $3.0 \text{ mol}\%$ 、DEG  $3.0 \text{ mol}\%$  とし、エタノールを  $330 \text{ g}$ 、重合温度を  $87^\circ\text{C}$ 、V-65 を  $0.84 \text{ g}$  とした以外は実施例 1 と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下 DPM943L と略す）中の DM ユニットの含量は  $3 \text{ mol}\%$  であり、エチレンオキサイド鎖の含量は  $1.8 \text{ wt}\%$  であった。また、GPC 測定の結果、重量平均分子量は  $0.8 \times 10^5$  であり、重量平均分子量が 1 万以下の割合は  $5 \text{ wt}\%$  であった。

実施例 1 と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は  $209 \text{ mg/m}^2$  であり、重量変化率は  $4.5\%$  であり、白血球除去能は  $3.6$ 、血小板回収率は  $84\%$  であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は  $4.2\%$  であり、白血球除去能は  $3.7$ 、血小板回収率は  $83\%$  であった。

〔実施例 15〕

各モノマーの仕込み量を HPMA  $93.0 \text{ mol}\%$ 、DM  $5.0 \text{ mol}\%$ 、DEG  $2.0 \text{ mol}\%$  とし、モノマー滴下時間を  $90$  分、V-65 を  $0.50 \text{ g}$  とした以外は実施例 1 と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下 DPM935 と略す）中の DM ユニットの含量は  $5 \text{ mol}\%$  であり、エチレンオキサイド鎖の含量は  $1.2 \text{ wt}\%$  であった。また、GPC 測定の結果、重量平均分子量は  $4.5 \times 10^5$  であり、重量平均分子量が 1 万以下の割合は  $2 \text{ wt}\%$  であった。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

実施例 1 と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は  $212 \text{ mg/m}^2$  であり、重量変化率は  $0.1\%$  であり、白血球除去能は  $3.7$ 、血小板回収率は  $84\%$  であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は  $0.1\%$  であり、白血球除去能は  $3.8$ 、血小板回収率は  $80\%$  であった。

#### 〔比較例 1〕

各モノマーの仕込み量を  $\text{HPMA } 97.0 \text{ mol}\%$ 、 $\text{DM } 3.0 \text{ mol}\%$  とし、実施例 1 と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下  $\text{DPM } 973$  と略す）中の  $\text{DM}$  ユニットの含量は  $3 \text{ mol}\%$  であり、エチレンオキサイド鎖の含量は  $0 \text{ wt}\%$  であった。また、GPC 測定の結果、重量平均分子量は  $2.8 \times 10^5$  であり、重量平均分子量が 1 万以下の割合は  $2 \text{ wt}\%$  であった。

実施例 1 と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は  $198 \text{ mg/m}^2$  であり、重量変化率は  $0.1\%$  であり、白血球除去能は  $3.5$ 、血小板回収率は  $80\%$  であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は  $0.1\%$  であり、白血球除去能は  $3.8$ 、血小板回収率は  $65\%$  であった。

また、 $0.5 \text{ g}$  の  $\text{DPM } 973$  をイソプロパノールと純水の混合溶媒  $100 \text{ g}$  に溶解させ、その溶液をポリエチレンテレフタレート製フィルム上に塗布し、余分な液を除去した後に室温で 16 時間乾燥させて、 $\text{DPM } 973$  コートフィルムを得た。

このフィルムを実施例 1 と同様の条件で高圧蒸気滅菌処理し、その表面状態を走査型電子顕微鏡（倍率  $3,000$ ）で観察した。電子顕微鏡写真によると、フィルム表面には、ポリマーがフィルムから浮き上がったことによる凹凸がみられた。

#### 〔比較例 2〕

各モノマーの仕込み量を  $\text{HPMA } 75.0 \text{ mol}\%$ 、 $\text{DM } 3.0 \text{ mol}\%$



WO 03/047655

PCT/JP02/12597

1%、DEG 22.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM753と略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は12.6wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.0 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $199 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は11.4%であり、白血球除去能は3.3、血小板回収率は82%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は10.9%であり、白血球除去能は3.4、血小板回収率は82%であった。

#### 〔比較例3〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 92.0mol%、DM 1.0mol%、DEG 7.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM921と略す）中のDMユニットの含量は1mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は4.2wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.0 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $197 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は0.5%であり、白血球除去能は2.5、血小板回収率は77%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は0.4%であり、白血球除去能は2.8、血小板回収率は73%であった。

#### 〔比較例4〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 83.0mol%、DM 10.0mol%、DEG 7.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM8310と略す）中のD

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

Mユニットの含量は10mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は4.1wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $3.1 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は200mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は10.2%であり、白血球除去能は3.6、血小板回収率は62%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は9.6%であり、白血球除去能は3.7、血小板回収率は59%であった。

#### [比較例5]

各モノマーの仕込み量をHPMA80.0mol%、DM3.0mol%、エチレンオキサイド鎖の繰返し単位数が1であるメトキシエチレングリコールメタクリレート（以下MEGと略す）17.0mol%とし、実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下MPM803と略す）中のDMユニットの含量は3mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は5.2wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $2.8 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は201mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は0.2%であり、白血球除去能は3.4、血小板回収率は73%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は0.2%であり、白血球除去能は3.7、血小板回収率は50%であった。

#### [比較例6]

各モノマーの仕込み量をHPMA96.0mol%、DM3.0mol%、エチレンオキサイド鎖の繰返し単位数が23であるメトキシポリエチレングリコールメタクリレート（以下PEGと略す）1.0mol%

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

とし、実施例 1 と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下 PPM963 と略す）中の DM ユニットの含量は 3 mol % であり、エチレンオキサイド鎖の含量は 6.6 wt % であった。また、GPC 測定の結果、重量平均分子量は  $3.2 \times 10^5$  であり、重量平均分子量が 1 万以下の割合は 2 wt % であった。

実施例 1 と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は  $205 \text{ mg/m}^2$  であり、重量変化率は 26.3 % であり、白血球除去能は 2.6、血小板回収率は 85 % であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は 25.1 % であり、白血球除去能は 2.7、血小板回収率は 84 % であった。

#### 〔比較例 7〕

各モノマーの仕込み量を HPMA 47.0 mol %、DM 8.0 mol %、NEG 45.0 mol % とし、実施例 1 と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下 NPM478 と略す）中の DM ユニットの含量は 8 mol % であり、エチレンオキサイド鎖の含量は 58.7 wt % であった。また、GPC 測定の結果、重量平均分子量は  $3.5 \times 10^5$  であり、重量平均分子量が 1 万以下の割合は 2 wt % であった。1.0 g の NPM478 をイソプロパノールと純水の混合溶媒 100 g に溶解させ、その溶液に、ポリエチレンテレフタレート製不織布を浸漬させ、余分な液を除去した後に室温で 16 時間乾燥させて目的のフィルター材を得た。ポリマーの単位表面積あたりの重量は  $25 \text{ mg/m}^2$  であった。

実施例 1 と同様の方法で滅菌処理、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における重量変化率は 43.6 % であり、白血球除去能は 2.4、血小板回収率は 58 % であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は 41.8 % であり、白血球除去能は 2.5、血小板回収率は 56 % であった。

#### 〔比較例 8〕

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

各モノマーの仕込み量をHPMA 75.0mol%、DM 5.0mol%、DEG 20.0mol%とし、エタノールを330g、V-65を0.78gとした以外は実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM 755Lと略す）中のDMユニットの含量は5mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は11.5wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $1.5 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は4wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は200mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は13.7%であり、白血球除去能は3.4、血小板回収率は81%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は13.3%であり、白血球除去能は3.5、血小板回収率は80%であった。

#### 〔比較例9〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 75.0mol%、DM 5.0mol%、DEG 20.0mol%とし、モノマー滴下時間を90分、V-65を0.50gとした以外は実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM 755Hと略す）中のDMユニットの含量は5mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は11.5wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $4.6 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は208mg/m<sup>2</sup>であり、重量変化率は10.0%であり、白血球除去能は3.5、血小板回収率は81%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は9.8%であり、白血球除去能は3.5、血小板回収率は79%であった。

#### 〔比較例10〕

各モノマーの仕込み量をHPMA 94.0mol%、DM 5.0mol%

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

1%、DEG 1.0 mol%とし、モノマー滴下時間を90分、V-65を0.50gとした以外は実施例1と同様の方法で合成した。このようにして得られたポリマー（以下DPM945と略す）中のDMユニットの含量は5 mol%であり、エチレンオキサイド鎖の含量は0.6 wt%であった。また、GPC測定の結果、重量平均分子量は $4.8 \times 10^5$ であり、重量平均分子量が1万以下の割合は2 wt%であった。

実施例1と同様の方法でフィルター材作製、溶出物試験および血液評価を行ったところ、滅菌処理前のフィルター材における単位表面積あたりのポリマー重量は $211 \text{ mg/m}^2$ であり、重量変化率は0.2%であり、白血球除去能は3.6、血小板回収率は82%であった。また、高圧蒸気滅菌処理後のフィルター材の重量変化率は0.2%であり、白血球除去能は3.6、血小板回収率は63%であった。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

[表1]

	ポリマー	重量平均 分子量 ( $\times 10^4$ )	エチレンオキ サイド鎖含量 (wt%)	EO/Mw ( $\times 10^{-6}$ )	滅菌 処理	重量変化率 (%)	白血球 除去能 (-Log)	血小板 回収率 (%)
実施例 1	DPM943	31	1.8	5.8	なし	0.2	3.6	84
					AC	0.2	3.8	81
実施例 2	DPM903	29	4.2	14.5	なし	1	3.7	86
					AC	0.8	4.0	84
					γ線	1	3.8	86
実施例 3	DPM863	32	6.5	20.3	なし	1.5	3.8	87
					AC	1.4	3.9	86
実施例 4	DPM823	33	8.7	26.4	なし	2.9	3.5	88
					AC	2.6	3.7	88
実施例 5	DPM885	30	4.2	14.0	なし	2.5	3.8	85
					AC	2.3	4.0	83
実施例 6	DPM867	29	4.2	14.5	なし	2.8	3.9	84
					AC	2.5	4.0	83
実施例 7	TPM943	32	3.6	11.3	なし	1.5	3.5	87
					AC	1.3	3.7	85
実施例 8	NPM953	34	5.2	15.3	なし	2.3	3.5	88
					AC	2.1	3.6	87
実施例 9	DBM873	30	5.5	18.3	なし	0.7	3.7	83
					AC	0.7	3.9	80
実施例 10	DPM805L	13	8.7	66.9	なし	4.7	3.8	85
					AC	4.3	3.8	84
実施例 11	DPM805H	44	8.7	19.8	なし	2.0	3.9	84
					AC	1.7	4.0	82
実施例 12	DPM823H	55	8.7	15.8	なし	1.8	3.6	87
					AC	1.5	3.7	82
実施例 13	DPM885L	14	4.2	30.0	なし	2.8	3.7	88
					AC	2.6	3.9	88
実施例 14	DPM943L	8	1.8	22.5	なし	4.5	3.6	84
					AC	4.2	3.7	83
実施例 15	DPM935	45	1.2	2.7	なし	0.1	3.7	84
					AC	0.1	3.8	80
比較例 1	DPM973	28	0	0.0	なし	0.1	3.5	80
					AC	0.1	3.8	65
比較例 2	DPM753	30	12.6	42.0	なし	11.4	3.3	82
					AC	10.9	3.4	82
比較例 3	DPM921	30	4.2	14.0	なし	0.5	2.5	77
					AC	0.4	2.8	73
比較例 4	DPM8310	31	4.1	13.2	なし	10.2	3.6	62
					AC	9.6	3.7	59
比較例 5	MPM803	28	5.2	18.6	なし	0.2	3.4	73
					AC	0.2	3.7	50
比較例 6	PPM963	32	6.6	20.6	なし	26.3	2.6	85
					AC	25.1	2.7	84
比較例 7	NPM478	35	58.7	168	なし	43.6	2.4	58
					AC	41.8	2.5	56
比較例 8	DPM755L	15	11.5	76.7	なし	13.7	3.4	81
					AC	13.3	3.5	80
比較例 9	DPM755H	46	11.5	25.0	なし	10.0	3.5	81
					AC	9.8	3.5	79
比較例 10	DPM945	48	0.6	1.3	なし	0.2	3.6	82
					AC	0.2	3.6	63

DPM=DEG/HPMA/DM  
 NPM=NEG/HPMA/DM  
 MPM=MEG/HPMA/DM  
 AC : 高压滅菌処理

TPM=TEG/HPMA/DM  
 DBM=DEG/HBMA/DM  
 PPM=PEG (n=23) /HPMA/DM

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

## 〔産業上の利用の可能性〕

本発明の白血球選択除去フィルター材は、溶出物が極めて少なく、かつ、使用時に血小板の粘着が非常に少なく、白血球を選択的に高収率で捕捉除去するという高い安全性と優れた血液性能を有する。さらにエチレンオキサイド鎖を少量含有させたことにより、滅菌処理前後における溶出性、血液性能の変化および劣化がほとんどなく、非常に優れた耐滅菌性を付与できた。本発明は、特に、ヒト全血に用いる白血球選択除去フィルター材として有用であり、また、血小板輸血や血液の体外循環白血球除去療法に用いることのできるフィルター材としても極めて有用である。

WO 03/047655

PCT/JP02/12597

## 請 求 の 範 囲

1. フィルター材表面にポリマーを含む白血球選択除去フィルター材であって、該ポリマーが、アルキル部分の炭素数が3または4のヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートユニットと、塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットと、繰返し単位数2～9のエチレンオキサイド鎖を有するモノマーユニットとから構成され、ポリマー中の塩基性含窒素官能基を有するモノマーユニットが2 mol %以上9 mol %以下、ポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量が1 wt %以上10 wt %以下であることを特徴とする耐滅菌性に優れた白血球選択除去フィルター材。

2. ポリマーがビニル系ポリマーであることを特徴とする請求項1に記載の白血球選択除去フィルター材。

3. ヒドロキシアルキル（メタ）アクリレートユニットがヒドロキシプロピルメタクリレートである請求項1または2に記載の白血球選択除去フィルター材。

4. エチレンオキサイド鎖の繰返し単位数が2である請求項1～3のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

5. ポリマーの重量平均分子量が10万以上50万以下であって、重量平均分子量が1万以下のポリマーの割合が10 wt %未満である請求項1～4のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

6. ポリマー中のエチレンオキサイド鎖の含量とポリマーの重量平均分子量との比が $3.5 \times 10^{-6}$ 以上 $40 \times 10^{-6}$ 以下である請求項1～5のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

7. ポリマーの導入量がフィルター基材の単位表面積当たり90 mg/m<sup>2</sup>以上300 mg/m<sup>2</sup>以下である請求項1～6のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。

8. ヒト全血から白血球を選択的に除去するために用いる請求項1～7のいずれかに記載の白血球選択除去フィルター材。



## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP02/12597

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
Int.Cl.<sup>7</sup> A61M1/02

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
Int.Cl.<sup>7</sup> A61M1/02Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched  
Jitsuyo Shinan Koho 1922-1996 Toroku Jitsuyo Shinan Koho 1994-2003  
Kokai Jitsuyo Shinan Koho 1971-2003 Jitsuyo Shinan Toroku Koho 1996-2003

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
E, Y	JP 2003-038641 A (Asahi Medical Co., Ltd.), 12 February, 2003 (12.02.03), Full text (Family: none)	1-8
P, Y	JP 2002-282351 A (Asahi Medical Co., Ltd.), 02 October, 2002 (02.10.02), Full text; Figs. 1 to 4 (Family: none)	1-8

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.
 ☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:	"I" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance	"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"E" earlier document but published on or after the international filing date	"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)	"&" document member of the same patent family
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means	
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed	

Date of the actual completion of the international search  
13 February, 2003 (13.02.03)Date of mailing of the international search report  
25 February, 2003 (25.02.03)Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

国際調査報告		国際出願番号 PCT/JPO2/12597
<b>A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))</b> <p style="text-align: center;">Int. Cl<sup>7</sup> A61M 1/02</p>		
<b>B. 調査を行った分野</b> 調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC)) <p style="text-align: center;">Int. Cl<sup>7</sup> A61M 1/02</p>		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの 日本国実用新案公報 1922-1996年 日本国公開実用新案公報 1971-2003年 日本国登録実用新案公報 1994-2003年 日本国実用新案登録公報 1996-2003年		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
<b>C. 関連すると認められる文献</b>		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
E, Y	JP 2003-038641 A (旭メディカル株式会社) 2003.02.12 全文 (ファミリー無し)	1-8
P, Y	JP 2002-282351 A (旭メディカル株式会社) 2002.10.02 全文、第1-4図 (ファミリー無し)	1-8
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日 <p style="text-align: center;">13.02.03</p>		国際調査報告の発送日 <p style="text-align: center;">25.02.03</p>
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 生越 由美 電話番号 03-3581-1101 内線 3346